Dott. ANGELO PETRONE
Professore ordinario di anatomia patologica
nella R. Università di Catania

Omaggio dell'Autore
Villa Martire alla Salute – Napoli –

5986

IL VALORE DELLA REAZIONE FERRICA

nella cellula sanguigna

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli
Anno LV.—N. IV.

NAPOLI
TIP. ED. TOCCO, SALVIETTI & GAETA
S. PIETRO A MAIELLA, 31.
1901.

Dott. ANGELO PETRONE
Professore ordinario di anatomia patologica
nella R. Università di Catania

IL VALORE DELLA REAZIONE FERRICA

nella cellula sanguigna

Estratto dagli Atti della R. Accademia Medico-Chirurgica di Napoli
Anno LV.—N. IV.

NAPOLI
TIP. ED. TOCCO, SALVIETTI & GAETA
S. PIETRO A MAIELLA, 31.
1901.

AL MAESTRO

ANTONIO DE MARTINI

Nelle mie ultime ricerche sul sangue recentemente pubblicate e propriamente nella seconda memoria " *Valore del nuovo reperto nell'emasia per l'azione del pirogallolo. Reazione ferrica* „ potei conchiudere, che il fondamento del novello fenomeno sia *un cambiamento ferrico nella massa dello zooide*, *cagionato dalla presenza di un composto a massimo di ferro e dell' acido solforico*: ed aggiunsi che bisognava anche meglio studiare l' importante fenomeno per spiegarlo nella sua intima essenza. Chiunque ha seguito queste mie ricerche, ove diversi fatti restavano oscuri o dubbi nell'interpetrazione data, vorrà giustificare l' ulteriore studio, di cui presento i risultati, i quali menano all' intendimento vero della *reazione ferrica* nel globulo sanguigno.

Devo ricordare i dubbi principali restati. Ed in prima, perchè tutti i composti di ferro mescolati in alcool assoluto, se impiegati soli, ordinariamente non danno la reazione, mentre questa si ottiene costantemente aggiungendovi alcool con solfato di rame? Come spiegare la reazione positiva, quando si impiegano preparati di ferro insolubili nell' alcool e nella stessa acqua, come il ferro metallico polverato, ecc. Filtrando simili miscele con alcool assoluto, i reagenti più squisiti del ferro restano senza risultato: quindi là di ferro non vi è: perchè aggiungendovi l'alcool col solfato di rame si ha la reazione? Allora, dimostrato già che il rame non è la causa della reazione, il ferro nemmeno, non trovandosene nella soluzione, non restava che addebitare la reazione all' *acido solforico* del solfato rameico, o meglio, al residuo alogenico della soluzione di sol-

fato rameico: così si sarebbero potuti interpetrare e spiegare tutti gli altri fatti osservati, che p. e. il solfato rameico aggiunto riesce sempre positivo: che riesce positivo l'allume ferrico: che il solfato ferroso dà immediatamente la reazione dopo l'aggiunta dell'alcool con un altro acido, ecc.

Quindi l'obbligo di tentare questa reazione col solo acido solforico, o con composti di acido solforico in cui non entrasse il ferro o il rame. A tal uopo ho sperimentato coll'acido solforico puro, col bisolfato di potassa, con l'allume, sempre in miscela coll'alcool assoluto, così come praticava col solfato di ferro, di rame, ecc. Dopo varie prove comparative ho potuto stabilire, che le miscele più adatte per la ricerca sono quelle, in cui la quantità dell'acido solforico nell' alcool è molto piccola, da assomigliare, nella reazione alla carta di tornasole, a quella che si ottiene dalla miscela di alcool con solfato rameico. Con le piccole quantità di acido solforico i preparati di sangue non si alterano, e la nuova combinazione del *ione* solforico si sarebbe dovuta avverare più facilmente. E qui non sarà forse inutile ricordare, che *ione* si chiama ciascuno dei due termini in cui può scindersi un elettrolito in soluzione; e che ognuno dei due ioni ha la proprietà di manifestarsi con le proprie reazioni: come ha dimostrato Arrhenius con la sua teoria elettrolitica, nella soluzione la dissociazione elettrolitica è già avvenuta per lo stesso solvente, e la corrente elettrica non fa che orientare i due ioni verso i due poli opposti. Si comprende subito quindi, che quanto più diluita è la soluzione di un ione, tanto più questo può esplicare la sua potenzialità di combinarsi, una volta che il formarsi dei due ioni si fonda sul fatto della soluzione.

E così ho potuto ottenere i migliori risultati dalla soluzione alcoolica di acido solforico 1:4000, ovvero, sempre nelle stesse proporzioni, triturando bisolfato di potassa, o allume con alcool assoluto: nella prima miscela la soluzione è perfetta e resta tale: nella seconda e terza la soluzione è minima, sedimentando buona parte del sale impiegato. Però in tutti e tre i casi l'alcool acquista notevole acidità e quindi il precipitato dei due ultimi è dovuto principalmente al composto basico.

Sottoposti i preparati di sangue semplicemente essiccato a ciascuno di questi alcool con acido solforico per 10 a 20 minuti, si ottiene *costantemente il risultato della reazione ferrica soltanto nello zooide*, così come si aveva coi migliori reattivi precedentemente spe-

rimentati: tutte le partì del sangue sono perfettamente conservate e fissate. Si ha l'emolisi e la dissoluzione del composto ferrico, se si prolunga il bagno per due ore: diro in una memoria speciale delle particolarità di tecnica.

Pel momento si può trarre la conclusione sicura, che quel nuovo reperto di colore nella massa dello zooide è dovuta all'acido solforico, non avendo impiegato che questo: che nel risultato simile, da me ottenuto per più di un anno, non vi entrava nè il rame, nè il ferro. Il ferro deve entrare nella formazione del nuovo composto giallo-bruno, ma non è quello che si può mettere coi reagenti; esso sta nella stessa massa dello zooide, la quale, come io ho dimostrato da parecchi anni, ha *reazione ferrosa.* É questo composto ferroso, o meglio il ione *FeO* del globulo rosso, che in presenza del ione SO^4 dell' alcool assoluto vi si combina e forma il composto ferrico col suo caratteristico colorito giallo-bruno rossigno. Non hanno, dopo ciò, alcun valore tutte le altre interpetrazioni da me date, pur restando i fatti che potei rilevare lungo le ricerche praticate.

Per stabilire, se questo risultato che si ha dall'acido solforico gli è esclusivo, ho sperimentato con parecchi altri acidi e propriamente col nitrico, cloridrico, cromico, borico, osmico, acetico, lattico e picrico. Con le soluzioni rispettive in alcool assoluto, sempre al titolo di 1:4000, il sangue si conserva bene in tutte le sue parti morfologiche, ma il risultato della reazione ferrica è costantemente negativo, non ottenendosi alcun cambiamento di colorito nella massa dello zooide.

E qui devo ricordare il risultato positivo della reazione ferrica, ottenuto con ciascuna di queste soluzioni acide, aggiunte all'alcool con solfato di ferro, allorchè adoperando solo quest' ultimo la reazione non si otteneva: anzi ho voluto di nuovo ripetere la prova e costantemente ho ottenuto la reazione soltanto aggiungendo all'alcool con solfato di ferro uno qualunque di quegli alcool acidi. Questo risultato conferma sempre più, la reazione esser dovuta, tra gli acidi, esclusivamente al solforico, il quale in questo caso, cioè del solfato ferroso, vien messo in libertà dagli altri acidi degli alcool, o almeno è messo nella condizione da poter esercitare la sua potenzialità di combinarsi col composto ferroso dello zooide.

Arrivato alla conclusione della genesi del fenomeno dall'acido solforico, io poteva spiegare perchè otteneva il reperto positivo della reazione ferrica con tutti i preparati di ferro, anche coi completa-

mente insolubili, quando aggiungeva alcool con solfato di rame: doveva essere il ione SO^4 del solfato rameico in soluzione la causa della combinazione ferrica. Se non che mi si parava avanti il dubbio del risultato negativo ottenuto impiegando il solo alcool con solfato di rame, ed anche l'altro negativo col solfato di ferro: se l'acido solforico cagiona il fenomeno, avrebbero dovuto farlo anche questi due alcool, i quali per giunta mostrano anche reazione acida pel ione SO^4 in soluzione. A questo proposito però devo ricordare, che nei primi tempi di queste ricerche io otteneva costantemente la reazione col solo alcool assoluto in cui aveva messo solfato di rame; che in seguito potei varie volte ottenere il risultato positivo anche dall'alcool con solfato di ferro. Ma quando ritornai, per la cronologia delle ricerche, a provare questi due reagenti, ordinariamente il risultato fu negativo, avendo adoperato nuove soluzioni dei due solfati in alcool assoluto, le quali aveva preparato mettendo una quantità molto piccola di questi sali, nella convinzione che avrebbero agito allo stesso modo, una volta che, anche mischiando una minima quantità di questi composti, vi è sedimento nell'alcool assoluto: tale sedimento io lo riportava ad eccesso di tutto il composto, e quindi ne triturai piccolissime quantità in alcool assoluto. Per mettere nei giusti termini la quistione, tornai a fare nuove soluzioni in alcool assoluto di solfato di rame o di ferro, adoprando una quantità eccedente di queste sostanze: saggiando allora con la carta di tornasole l'alcool delle quattro boccette, quando dopo un giorno la parte insolubile era sedimentata, nelle due boccette con minima quantità di quei sali la reazione era debolmente acida, mentre nelle altre due lo era fortemente: da ciò potei desumere, che il sedimento è relativo al ione insolubile metallico, non al ione alogenico SO^4, che cresce di quantità nell'alcool assoluto, quanto più si mette di solfato. Ho provato allora con questi due ultimi alcool, ed ho potuto costantemente ottenere i più bei preparati di reazione ferrica nello zooide: ed anche coi due primi alcool, aggiungendo dell' alcool con altri acidi, si ottiene lo stesso, pel fatto già notato in sopra, di quella specie di svincolamento del ione solforico verso il ione metallico, operato dall'altro acido.

In conclusione, l'acido solforico nell'alcool assoluto cagiona il fenomeno ferrico, sia adoperando il solo acido solforico, sia composti in cui esso vi entra, come il bisolfato di potassa, l'allume, il solfato ferroso, il solfato rameico. Nel caso speciale di queste soluzioni agisce sul composto ferroso dello zooide il residuo alogenico

dell'acido solforico SO^4, quello, cioè, che resta all' acido solforico togliendo l' idrogeno.

Come succede la trasformazione della sostanza ferrosa della cellula sanguigna in sostanza ferrica, mi pare difficile dirlo con sicurezza. È una semplice aggiunta di ossidazione, ovvero si forma un nuovo composto ferrico? In altri termini si forma un sesquiossido di ferro, ovvero un solfato ferrico? Una nuova ossidazione non si potrebbe escludere *a priori*, perchè vi è l' ossigeno dell'emasia, il quale in presenza del ione SO^4 potrebbe ossidare il composto ferroso dello zooide: ovvero si potrebbe formare solfato ferroso nello zooide, e per lo stesso ossigeno dell'emasia diventare solfato ferrico: o infine si potrebbe ammettere la trasformazione del solfato ferroso in ferrico per l'azione dello stesso ossigeno dell'aria, quando questa arriva sullo zooide, come succede sul preparato che si va prosciugando dell'alcool solforico; e quest'ultima ipotesi parrebbe sostenuta dal fatto, che la reazione ferrica non apprezzabile o poco, quando sullo stratarello vi è ancora molto alcool, comparisce e progredisce durante l'osservazione, mentre si inizia l'essicamento: succederebbe allora lo stesso fatto che si ottiene in una provetta, quando il precipitato verde di un composto ferroso per opera della potassa, diventa rosso-tabacco, rosso-mattone nella sua parte superficiale pel contatto dell'aria, il cui ossigeno trasforma il composto ferroso in ferrico. Bisogna però notare, che il reperto della reazione ferrica nel globulo rosso si ottiene anche quando il preparato è tuttora nel bagno di alcool; e si conferma ciò, capovolgendo lo stratarello di sangue essicato su di un portoggetti con camera, ove si mette precedentemente l'alcool assoluto solforico: là il preparato sta nel reagente fuori il contatto dell'aria, e la reazione ferrica si ottiene sicuramente, potendosi apprezzare sotto al microscopio dopo la prima mezz'ora, ed anche meglio successivamente. Quindi l' ossigeno dell'aria può rafforzare il fenomeno, ma la reazione si produce anche senza di esso.

Comunque avvenga l'ossidazione del composto ferroso, che potrebbe anche essere un'ossidazione relativa soltanto all'azione dell'acido solforico, (chè in questo caso SO^4 combinandosi con una parte di *Fe*, *FeO* diventerebbe senza aggiunta di nuovo ossigeno FeO^2), certo che si forma un composto di ferro a massimo nello zooide e per opera esclusiva dell' acido solforico, non facendolo gli altri acidi. E qui l'altra domanda: si forma solfato ferrico, ovvero sesquiossido di ferro? Io ho ritenuto più probabile la formazione di solfato

ferrico, sia perchè si impiega l'acido solforico, sia perchè la reazione non succede dietro l'azione degli altri acidi anche forti, sia pel colorito giallo-bruno rossigno, che compete più al solfato ferrico che al sesquiossido, il quale apparirebbe nerastro al microscopio e sarebbe completamente opaco. Mi è sembrato infine avere la prova diretta della formazione di solfato ferrico, per ciò che esporrò subito, cioè della reazione che si ottiene anche dalla soluzione acquosa di acido solforico: allora quel colorito giallo-bruno anche si forma, ma si scioglie nell'acqua, ed è per ciò che si allontana dal sito di origine e va ad agire come sostanza colorante cromatica: ora il solfato ferrico è solubile in acqua e non il sesquiossido di ferro.

Ed eccomi ora alla reazione ferrica che si ottiene mediante la soluzione acquosa di acido solforico. Dopo la reazione ottenuta coll'alcool solforico, io volli tentare la prova coll'acido solforico in soluzione acquosa: per legge chimica la reazione si sarebbe dovuta ottenere. E cominciai la prova col sangue, semplicemente essiccato, mettendolo nel bagno di una soluzione acquosa forte 1: 4, pel fatto noto, che tale soluzione conserva perfettamente gli elementi cellulari e lo stesso sangue prima trattati con altri mezzi fissatori. Messo lo stratarello di sangue in questo bagno, facendo che il covroggetti resti a galla del liquido col sangue in giù, e facendo restare così per tutto il tempo che si vuole, anche per molti giorni, si ha lo stesso risultato che già si ottiene nella prima ora: lo stratarello di sangue, senza alcuna fissazione precedente, è perfettamente fissato, come già si apprezza ad occhio nudo, apparendo lo stratarello molto bene, anzi il colorito giallo-rossastro del sangue appare ancora più marcato.

Non è a mia conoscenza, aver altri adoprato questo mezzo per fissare il sangue semplicemente essiccato; e ciò mi sembra confermato dal non aver finora alcuno parlato della fissazione perfetta che si ottiene di tutti gli elementi cellulari del sangue non solo pel sito, ma anche per la morfologia, della pochissima spesa, della facilità di sottoporre ad ulteriori trattamenti, specie coloranti, della chiusura definitiva in glicerina o in balsamo, ed infine del fenomeno singolare, specioso che si presenta della colorazione giallo-bruna molto delicata, come di giallo-tabacco soltanto nella sostanza cromatica dei nuclei dei corpuscoli bianchi nei mammiferi, ed anche negli stessi ed in quelli dei globuli rossi e delle piastrine negli ovipari; perciò ho ritenuto e ritengo tuttora essere questo un nuovo

metodo per fissare il sangue. Ne farò quindi un cenno speciale per la sua semplicità ed importanza pratica.

Come metodo fissatore del sangue è il più facile e riesce sempre senza aver bisogno di tutte quelle precauzioni e finezze richieste per altri mezzi: basta avere una soluzione solforica in acqua 1:4, e mettervi in contatto lo stratarello di sangue essiccato, perchè il risultato si ottenga infallibilmente, già dopo la prima mezz'ora, anzi il risultato è iniziato anche dopo pochi minuti: i preparati si possono lasciare anche molti giorni nella soluzione solforica senza alterarsi affatto, e quella stessa soluzione può servire indefinitamente per altri preparati non alterandosi mai, nè perdendo sensibilmente acqua per l'igroscopicità dell'acido solforico. I preparati si possono osservare ancora umidi del mezzo fissante, ovvero si lavano prima ripetutamente in acqua distillata: il reperto è sempre lo stesso e nitido; è utile però lavar prima, così allontanandosi l'acido solforico non si rovinano gli istrumenti metallici, e si possono facilmente praticare gli ulteriori trattamenti: senza il lavaggio in acqua non si potrebbe poi chiudere a secco, restando lo stratarello sempre umido per la presenza dell'acido solforico. Come ho detto, il sangue è conservato e fissato nel modo migliore, i globuli rossi, le piastrine ed i globuli bianchi sono intatti: nessuna formazione di fibrina, la quale invece si ha sovente coll'acido osmico, sublimato, ecc. Tutti questi elementi restano incolori, meno il nucleo dei leucociti, il quale è colorato di un *gialletto bruno*, come *tabacco*, nel modo più fine e delicato, potendosi distinguere bene l'apparenza filare e granulare della sostanza nucleare: si ha l'apparenza della colorazione più riuscita di vesuvina, con la specialità che il colorito è esclusivo della massa cromatica: tutto il resto del corpuscolo bianco e degli altri elementi cellulari resta perfettamente muto alla colorazione. Coi preparati di sangue di ovipari e di embrioni di mammiferi ho ottenuto precisamente lo stesso risultato; e qui, oltre il nucleo dei corpuscoli bianchi, è anche delicatamente colorato allo stesso modo il nucleo dei corpuscoli rossi e quello delle piastrine, come anche il nucleo dei gigantoblasti e normoblasti nel sangue dell'embrione.

Di un interesse speciale pratico riesce questo metodo per la Clinica, potendosi in pochi minuti, e senza tema che i preparati non riescano, stabilire il numero dei corpuscoli bianchi che si trovano in ciascun campo microscopico, dal risalto che fa ciascuno di

essi pel nucleo così colorato in un campo incolore, ed apprezzare immediatamente se si tratta di leucociti polinucleati, linfociti, ecc.

Se si vuole entrare nell'essenza di questo risultato, risalta in primo luogo il fatto straordinario e forse unico, di una colorazione speciale della sostanza cromatica fatta da una soluzione incolore: si hanno altri esempi di colorazioni speciali che avvengono nei tessuti, mentre tale colorito non avevano le sostanze coloranti, o queste erano colorate in modo diverso, come il cloruro di oro, il nitrato di argento, ecc; ma quel risultato dipende dalla riduzione del metallo principalmente per opera della luce, e poi il nuovo colore appare là ove si forma: nel caso attuale invece la luce non entra affatto, ed il fenomeno si inizia originariamente in altri elementi, corpuscolo rosso, per combinazione chimica, ed in seguito sciogliendosi quella sostanza colorante nell'acqua, agisce come sostanza colorante cromatica sui leucociti, mentre i corpuscoli rossi si mostrano incolori, perchè sono stati decolorati.

Che il colorito speciale della sostanza cromatica, che si ottiene dalla soluzione acquosa solforica sia soltanto secondario e dipendente dalla decolorazione insensibile che si fa nel prodotto della reazione ferrica, che anche allora si deve avverare primitivamente nello zooide, io ritenevo già, perchè trattavasi dello stesso colorito, il quale si ottiene dopo l'uso dello stesso reagente: in seguito ho potuto ciò dimostrare coi fatti seguenti:

« Impedendo la reazione ferrica nella massa dello zooide col coagulare e fissare precedentemente l' emoglobina ed il resto del contenuto dell'emasia co l'alcool assoluto o con gli altri mezzi, la colorazione più non si ottiene nella sostanza cromatica, assoggettando il sangue alla soluzione acquosa solforica: soltanto si ottiene quando la fissazione non è completa, come succede nei preparati che sono stati pochi minuti, o almeno non più di 2 ore nell'alcool.

« Togliendo artificialmente coll'emolisi la sostanza reazionabile, come nel modo migliore si ottiene assoggettando lo stratarello di sangue essiccato al lavaggio ripetuto in acqua, dopo l'essiccamento, i corpuscoli bianchi già rispettati, non mostrano alcuna colorazione dei loro nuclei, se si mettono nella soluzione acquosa solforica: soltanto se l'emolisi non è completa può ottenersi una lievissima colorazione.

« Assoggettando i preparati di sangue, precedentemente fissati e reazionati dall'alcool solforico, al bagno della soluzione acquosa

solforica più diluita 1:40, dopo poche ore, e meglio dopo un giorno, si ottiene la decolorazione più o meno completa degli zooidi, mentre si colorano nel modo più perfetto i nuclei dei corpuscoli bianchi ed anche dei corpuscoli rossi nucleati, precedentemente incolori. Ciò non fanno le soluzioni acquose di altri acidi allo stesso titolo.

" Come i corpuscoli bianchi del sangue, a cui si è tolta la provenienza della sostanza ferrica per l'emolisi precedentemente fatta, così anche i corpuscoli del pus, quelli del muco, le cellule epiteliali non mostrano alcuna colorazione nella soluzione acquosa solforica, pur conservandosi e fissandosi in modo perfetto, se si fanno essiccare preparati di questi elementi quando non vi è pervenuto sangue: invece vi è la colorazione perfetta del nucleo di tutti questi elementi cellulari, quando si è procurato di avere questi elementi misti a corpuscoli rossi.

" Se infine della stessa marcia o muco ecc. senza sangue si fanno una serie di stratarelli su covroggetti semplici, ed altri su covroggetti su cui precedentemente si è fatto essiccare uno stratarello di sangue, assoggettati al bagno solforico acquoso, i primi restano perfettamente incolori, mentre i secondi mostrano nel modo più bello i nuclei di tutte le cellule colorati in giallo-tabacco caratteristico.

A me pare quindi, potersi conchiudere con sicurezza, che la colorazione speciale delle sostanze cromatiche nucleari è soltanto secondaria, ed è dovuta alla dissoluzione del composto ferrico che si forma precedentemente nel contenuto ferroso della cellula sanguigna: il composto ferrico resta là ove si forma solo quando il reagente agisce contemporaneamente fissandolo e rendendolo insolubile; e ciò si ottiene impiegando per mestruo l' alcool assoluto. Ed in questo l'acido solforico deve trovarsi in quantità molto piccola, non soltanto per ottenere il risultato favorevole della reazione ferrica che avviene tanto più facilmente quanto più il ione SO^4 é in soluzione diluita, ma anche perchè una soluzione concentrata alcoolica dell'acido solforico rovina e distrugge le parti corpuscolari del sangue, come a me è occorso, saggiando con una soluzione di una parte di acido solforico su 4 di alcool: e così due dei migliori fissanti agiscono da emolitici, quando il reagente è in quantità forte; il contrario di ciò che si avvera con la soluzione acquosa, la quale poi non si potrebbe impiegare a soluzione tenue, (e

così dovrebbe farsi secondo la teoria elettrolitica), perchè riuscirebbe emolitica. Infatti impiegando p. e. una soluzione solforica 100 volte più debole, 1:400 di acqua, si ha emolisi; la combinazione ferrica però avviene, anzi più intensamente e precocemente, ma si discioglie presto per l'abbondanza dell'acqua, per cui la soluzione solforica diventa di colorito giallo-bruno sporco: i nuclei dei leucociti si colorano nel modo caratteristico; ed allora si può apprezzare anche la simile colorazione, sebbene più debole, in quel poco di massa cromatica che sta nelle piastrine dei mammiferi: così parrebbe, che anche le piastrine subiscano un poco l'imbibizione di quella sostanza colorante ferrica. Ritornerò sull'argomento.

Dopo questi risultati io credei indurre, che possedendo una soluzione acquosa di solfato ferrico, il risultato avrebbe dovuto essere positivo per la colorazione caratteristica del nucleo dei corpuscoli bianchi e delle sostanze cromatiche in generale: e non potendo disporre che del solfato ferrico in combinazione con altre sostanze, mi servii dell'allume ferrico, in cui vi è solfato ferrico; e per evitare l'emolisi che veniva con soluzioni deboli, dovei arrivare alla soluzione satura acquosa, la quale conserva perfettamente tutta la parte corpuscolare del sangue semplicemente essiccato. Il risultato della colorazione però è stato negativo, come riesce negativo anche con le soluzioni acquose sature di allume, di bisolfato di potassa, di solfato ferroso e di solfato rameico, le quali tutte conservano anche bene la parte corpuscolare del sangue. Intanto se a tutte queste soluzioni si aggiunge una minima parte di acido nitrico, o cloridrico, ecc., p. e. una goccia di queste soluzioni acquose acide 1:4000, anche 1:1000 in 9 di quelle soluzioni sature, si ottiene dopo un certo tempo, un'ora o più, la colorazione caratteristica della sostanza cromatica, molto probabilmente pel fatto, che l'acido aggiunto paralizza l'azione inibitrice della base del solfato ferrico, e quindi permette la combinazione del ione SO^4 col composto ferroso dell'emasia: indi la dissoluzione nell'acqua del mestruo e consecutiva colorazione cromatica.

Il fatto della forza inibitrice di altre basi è comprovato con un altro sperimento: aggiungendo alla soluzione acquosa solforica 1:4 una soluzione più concentrata ancora di potassa caustica, in modo che la miscela abbia reazione alcalina, la reazione ferrica sul sangue non avviene più e quindi neanche la colorazione del nucleo dei leucociti: per ottenere la dovuta miscela non basta me-

scolare a parti eguali la soluzione solforica 1:4 e quella di potassa 1:3, che abitualmente si usano in tecnica, perchè allora la miscela è ancora notevolmente acida e la reazione ferrica si ottiene: bisogna mescolare 3 a 4 parti della suddetta soluzione di potassa con una della soluzione solforica 1:4 per avere dalla miscela la reazione alcalina: ed allora, pur conservandosi il sangue, la reazione ferrica è completamente mancante.

Il modo di originarsi od anche di trasporsi della reazione ferrica è infine illustrato dal reperto istologico: infatti nello zooide la colorazione giallo-bruna è molto forte, carica, da covrire la struttura fina locale, e ciò depone per la nuova combinazione chimica ivi avvenuta, e negli stessi corpuscoli rossi nucleati l'ammasso colorato è limitato, opaco, irregolare, forse di forma cristallina: invece la stessa colorazione, dopo l'impiego del medesimo reagente in soluzione acquosa, dei nuclei dei corpuscoli bianchi, o dei corpuscoli rossi nucleati è più leggiera, più delicata, senza alterare affatto la struttura intima della massa nucleare; e ciò depone per una semplice imbibizione elettiva, come con le conosciute sostanze coloranti.

Dopo tali risultati, mi sarà lecito poter conchiudere che *i globuli rossi del sangue dell'uomo e degli altri mammiferi conservano il nucleo primitivo*, il quale è soltanto modificato nel passaggio alla vita estrauterina per l'alta funzione respiratoria: allora si differenzia dal nucleo a *funzione e reazione acide* di tutte le altre cellule dell'organismo per la sua *funzione e reazione basiche*, dovute alla presenza della *sostanza ferrosa*.

Con la reazione ferrica, applicata nei modi esposti, si apre, io credo, un nuovo orizzonte all' ematologia, ed è da augurarsi una messe ubertosa anche per la clinica: in questo campo e con questo indirizzo io ho appena cominciato; e posso preannunziare, che in quattro casi di *clorosi* ho potuto ottenere il risultato che permetterebbe indurre l'alterazione essenziale del processo essere nello zooide o organo ferrifero, il quale in ciascuno dei casi ho trovato molto piccolo, deforme, con poca sostanza reazionabile: nel fare il riscontro coi preparati di sangue normale, vi si nota la grande differenza, non apparendo molto spesso nei preparati di sangue clorotico il colorito della reazione ferrica nel nucleo: che se questi preparati si trattano colla soluzione solforica acquosa la colorazione della sostanza cromatica dei leucociti è debole, confermando con ciò l'alterazione essenziale nell'organo emoglobigeno: in altre anemie semplici,

naturali o sperimentali, tale alterazione non si trova, comparendo, anche nel sangue più attenuato, lo zooide con la sua reazione ferrica come il normale o quasi. Probabilmente sarà per questo, che in un'anemia così essenziale, come la clorosi, fa più bene il riposo, la quiete, l'aria ossigenata, che lo stesso ferro, il quale medica soltanto temporaneamente: bisognerà tentare altri mezzi che possano intimamente modificare la cellula sanguigna. Materiale più esteso di osservazioni e la cooperazione di molti studiosi potranno dare risultati preziosi per la pratica.

Napoli 23 agosto 1901.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

FIGURA 1.ª — Sangue di uomo sano. Reazione ferrica, ottenuta coll'alcool assoluto solforico 1:4000, esclusiva alla massa dello zooide. Emoglobina, piastrine e corpuscoli bianchi senza reazione.

» 2.ª — Sangue di rana. Reazione ferrica, ottenuta coll' alcool assoluto solforico, esclusiva ad una parte della massa nucleare dei corpuscoli rossi: in ciascuno di essi appare diversa la massa reazionata, per la frammentazione e dislocazione avvenuta artificialmente. Corpuscoli bianchi, piastrine ed emoglobina senza alcuna reazione.

» 3.ª — Sangue di uomo sano, sottoposto al bagno della soluzione acquosa solforica 1 : 4. Corpuscoli rossi senza reazione. Colorazione caratteristica giallo-tabacco nei soli nuclei dei corpuscoli bianchi. Le piastrine sono incolori, meno alcune in cui si intravede la colorazione giallo-bruna nella scarsa massa cromatica.

» 4.ª — Sangue di rana, sottoposto al bagno della stessa soluzione acquosa. Colorazione ferrica caratteristica, estesa a tutta la massa nucleare dei corpuscoli rossi, dei corpuscoli bianchi e delle piastrine: il protoplasma è ovunque colorato soltanto dall'eosina.

» 5.ª — Sangue di uomo sano, precedentemente assoggettato alla reazione ferrica con l' alcool solforico, e dopo al bagno di soluzione solforica acquosa 1:40. Dissoluzione più o meno completa del composto ferrico dello zooide e colorazione del nucleo dei corpuscoli bianchi precedentemente incolore.

» 6.ª — Idem idem, assoggettato dopo al bagno di soluzione acquosa cloridrica 1 : 40. La massa ferrica non è disciolta ed allontanata dallo zooide: i nuclei dei leucociti restano colorati dal solo bleu di metile.

» 7.ª — Sangue di rana, precedentemente assoggettato alla reazione ferrica con l'alcool solforico, e dopo al bagno solforico acquoso 1:40. Si ottiene il risultato, come se lo straterello fosse stato assoggettato fin dal principio alla soluzione solforica acquosa 1 : 4; infatti questa figura rassomiglia perfettamente alla fig. 4.ª; mentre prima del 2.° trattamento i globuli bianchi e le piastrine erano incolori, ed il nucleo dei rossi colorato parzialmente, come nella fig. 2.ª

» 8.ª — I primi 6 globuli rossi appartengono al sangue di un embrione di cavia assoggettato alla reazione ferrica mediante l'alcool assoluto solforico. Vi si possono seguire le trasformazioni successive

della massa cromatica in senso inverso della massa ferrifera nel nucleo: si notano anche i granuli cromatici (tingibili) nell'emoglobina, sino alla scomparsa di tutta la massa cromatica e riempimento della nicchia nucleare dalla massa ferrosa.

Gli ultimi 2 globuli sanguigni appartengono al sangue di leptocefalo, sottoposto allo stesso trattamento: si nota il grosso volume del nucleo, fatto quasi tutto da massa cromatica, in mezzo alla quale si trova un piccolo granulo di massa ferrosa.

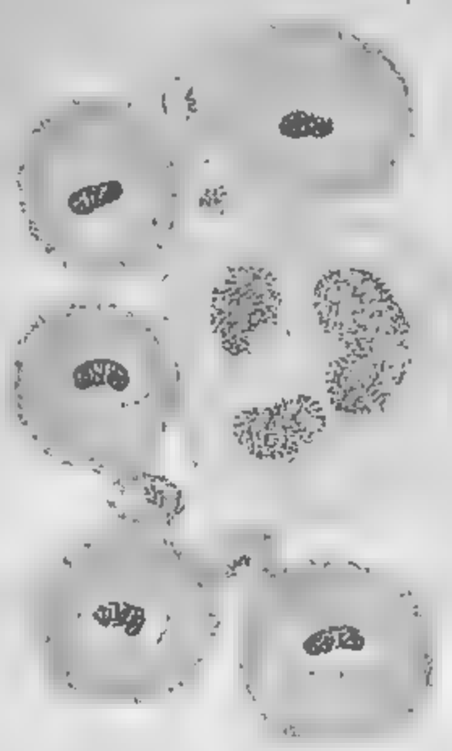
FIGURA 9.ª — Pus di una fistola gengivale dentaria misto a sangue, assoggettato alla soluzione solforica acquosa 1:4. Colorazione caratteristica giallo-bruna dei nuclei dei corpuscoli purulenti e delle cellule epiteliali. I globuli rossi sono conservati e senza alcun colore ferrico.

Tutte le figure sono riprodotte con ingrandimente di 900 diametri. Leitz 5–7.

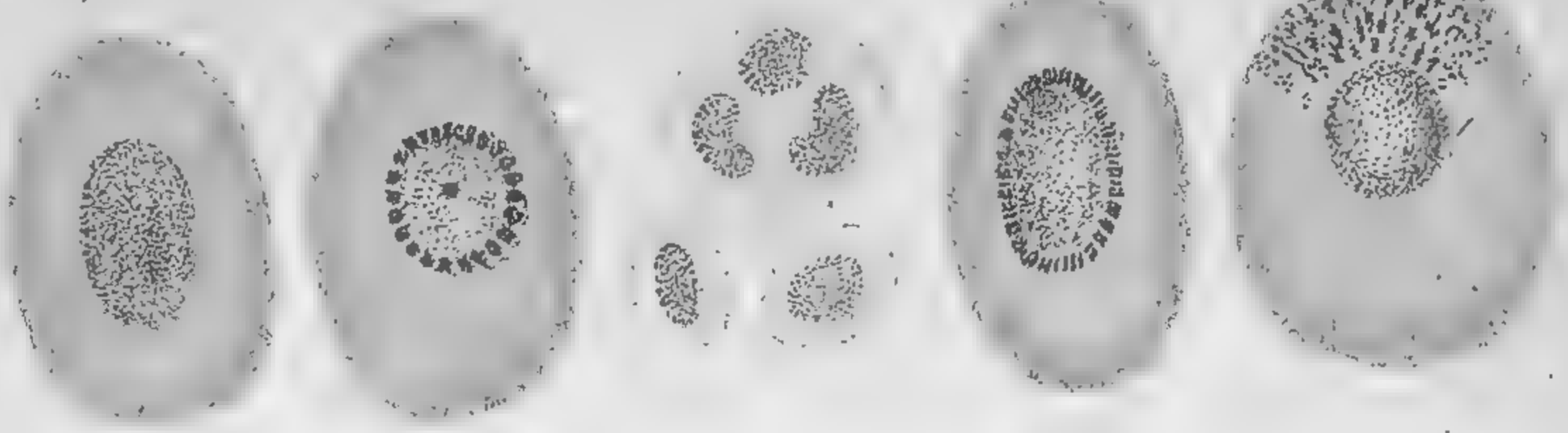
I preparati, precedentemente assoggettati alla reazione ferrica, dopo il ripetuto lavaggio in acqua e dopo l'essiccamento, sono stati colorati prima dall'eosina e poi dal bleu di metile (*Fig. 1, 2, 6, 8*), dalla sola eosina gli altri (*3, 4, 5, 7, 9*).

A Petrone - Diverse disposizioni di cellule negli epiteli

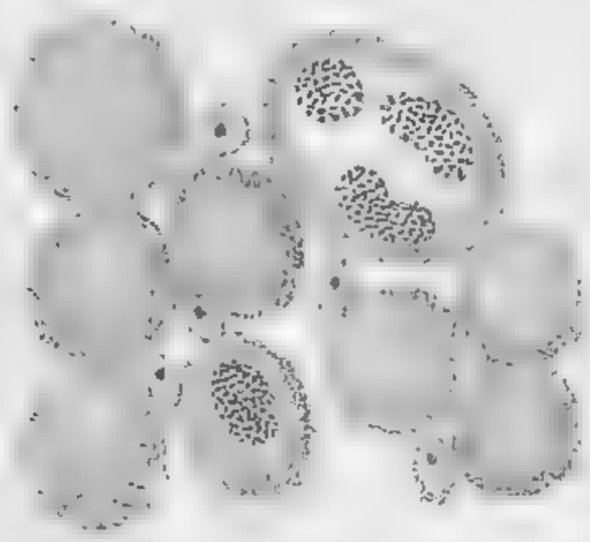
1



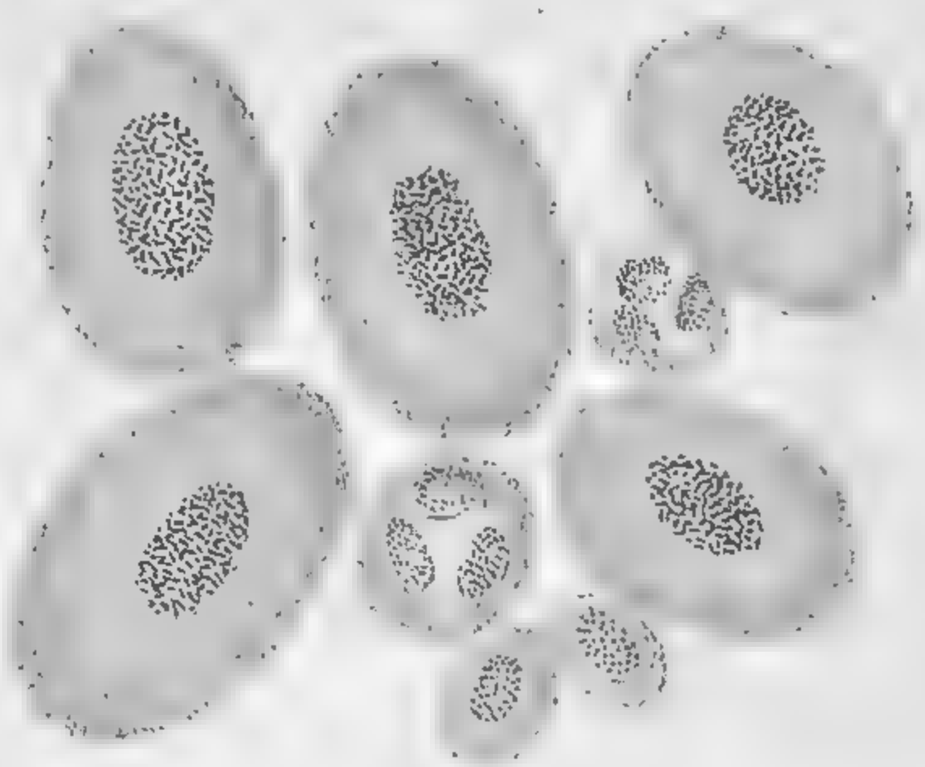
2



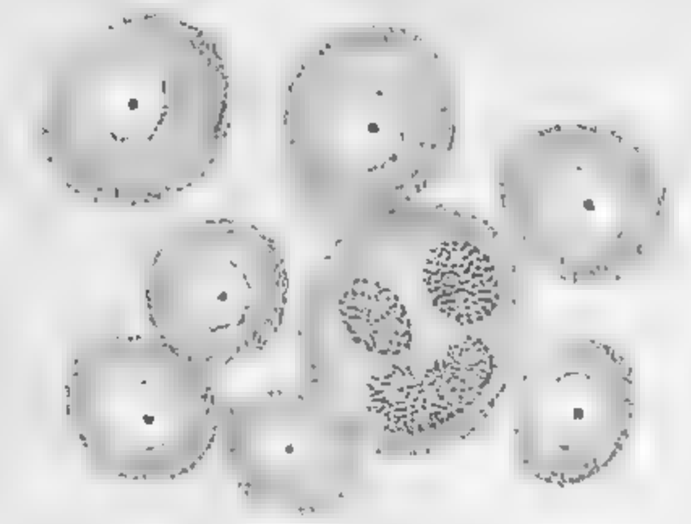
3



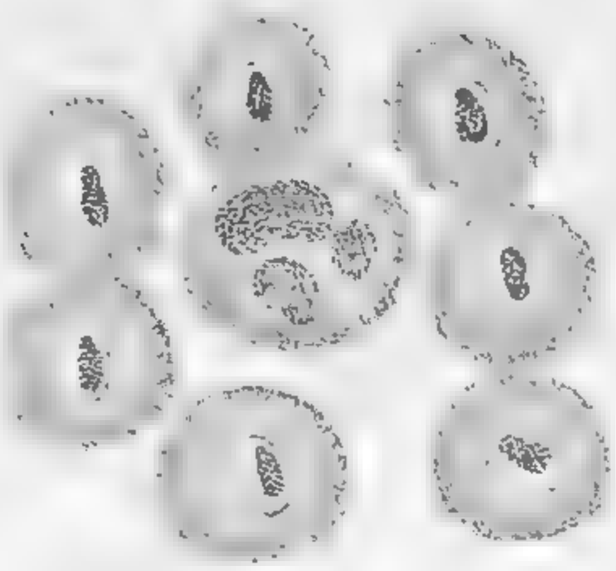
4



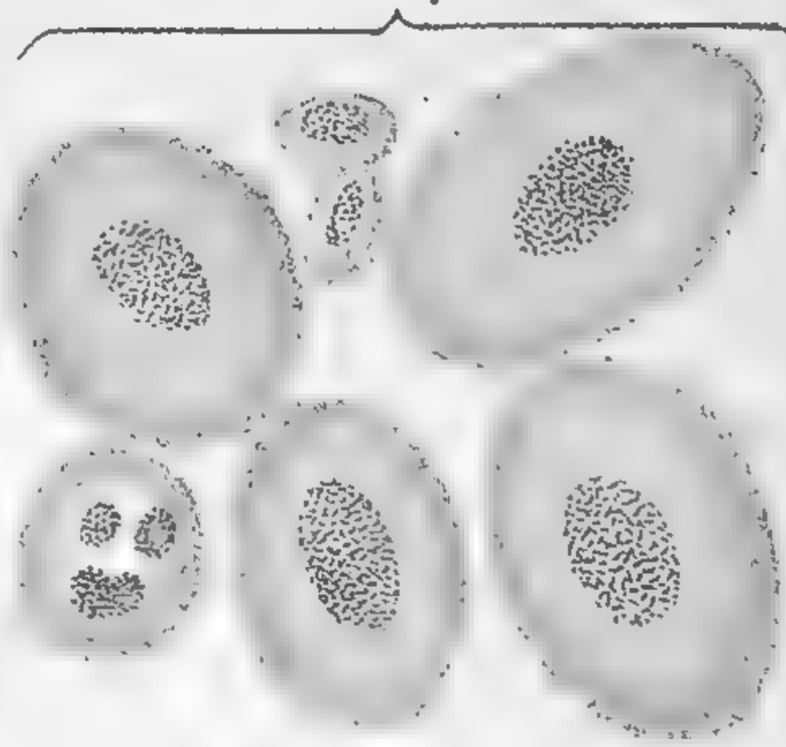
5



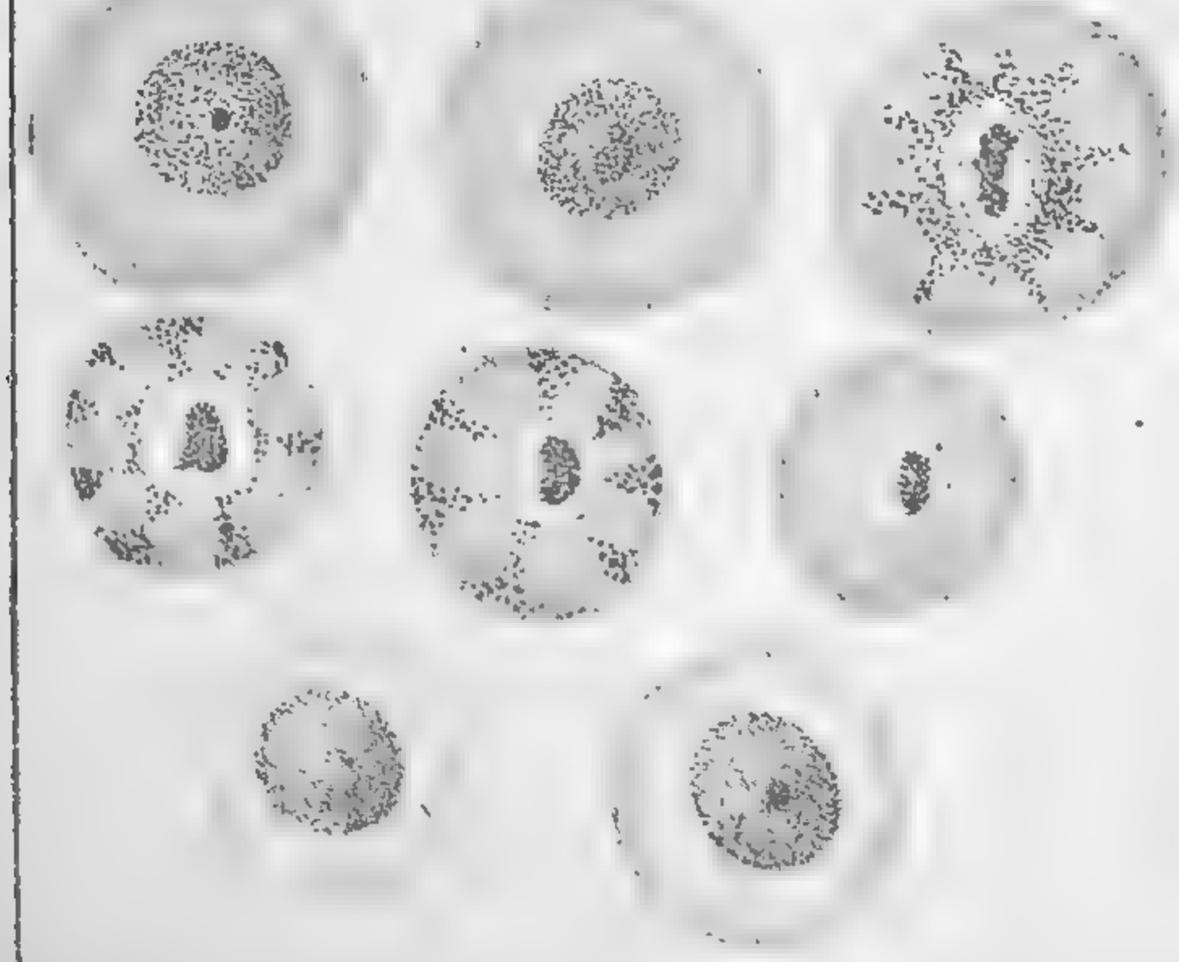
6



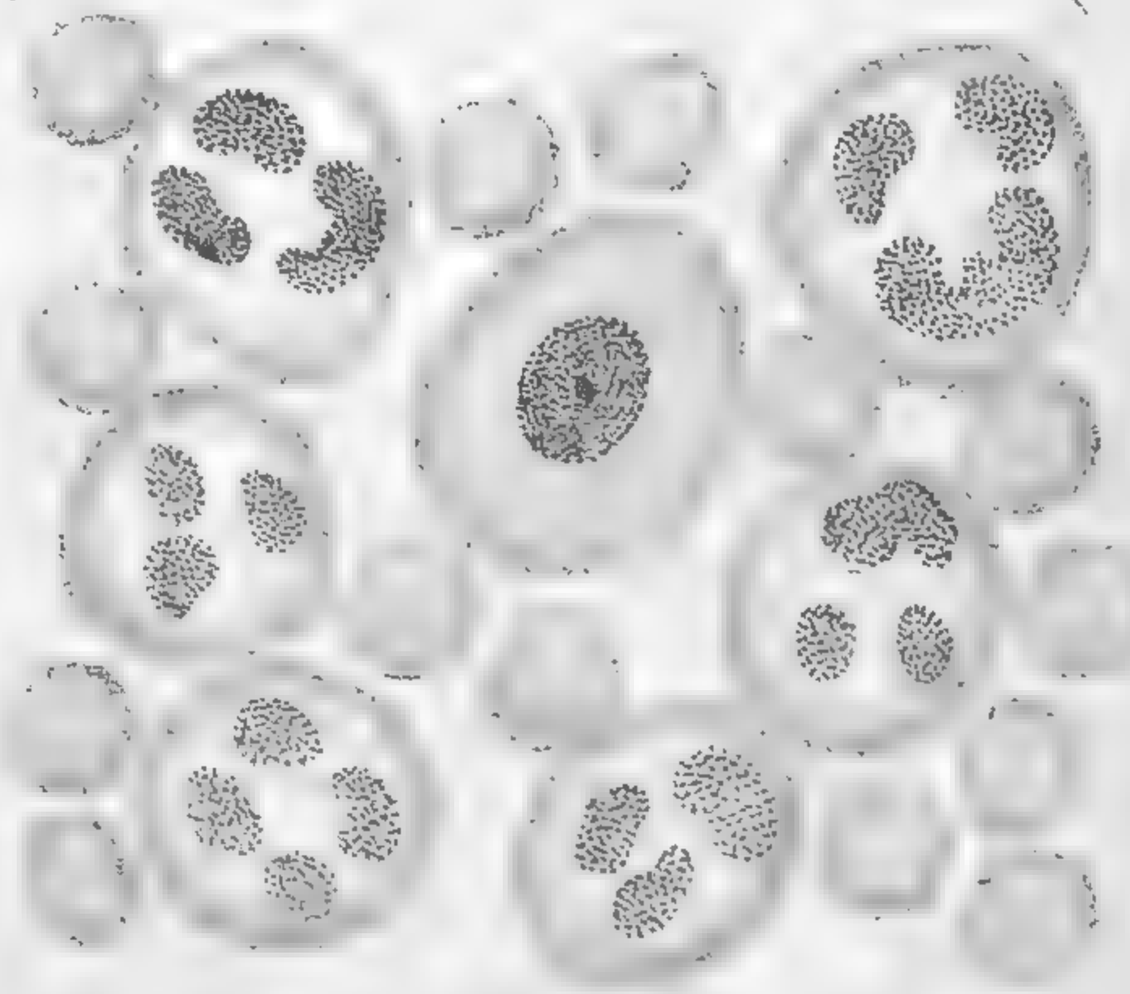
7



8



9



A Petrone prep. e dis.

Lit. A. Serino - Napoli

Adunanza ordinaria del 25 agosto

Presidenza del Presidente Senatore Prof. A. DE MARTINI

Sono presenti i Socii Ordinarii: de Martini, del Gaizo, Notarianni, Morisani, Martino, Comes, Malerba, Armanni, Antonelli, de Vincentiis, Massei, Capozzi, de Renzi, Fede, Schrön e Frusci;

ed i Socii Aggregati Residenti: d'Angelo, Jacobelli, Ninni, Romano, Breglia, Bàculo e Corrispondente: A. Petrone.

Letto ed approvato il processo verbale della precedente tornata e l'elenco dei libri, opuscoli e giornali inviati all' Accademia, il Segretario comunica una lettera da Berlino del Comitato per le onoranze a Virchow, lettera trasmessa all'Accademia da parte di S. E. Guido Baccelli e con la quale il Sodalizio viene invitato a farsi rappresentare da un proprio delegato alle feste che si faranno a Berlino per quelle onoranze.

Il Socio Ordinario Prof. de Renzi propone che la Presidenza deleghi a rappresentare l'Accademia qualche Socio, che si recasse colà per quelle onoranze; ed il Socio Ordinario Prof. Antonelli aggiunge, che, ove nessun Socio si recasse colà in quell'occasione, la delegazione sia fatta anche ad altri estranei all' Accademia. Così rimane stabilito.

Il Socio Ordinario Prof. Frusci, anche a nome dei Socii Gallozzi, Cardarelli ed Armanni, legge il rapporto sulle comunicazioni del Dott. F. Lastaria e Prof. G. Pascale intorno alla cura chirurgica dell' ascite da cirrosi epatica, proponendo la pubblicazione di entrambe le Memorie negli Atti dell'Accademia. La proposta è approvata all'unanimità.

Il Vice Presidente Prof. Gallozzi scusa la sua assenza, essendo indisposto.

Il Socio Ordinario Prof. Fede presenta nuovamente la bambina affetta da produzione sottolinguale, che più volte ha mostrata alla Accademia ed è stata oggetto di discussione. Riferisce le fasi, che nella bambina si sono osservate con analoghe considerazioni. I Socii osservano la bambina. La comunicazione sarà inserita negli Atti. Indi il Socio Aggregato Corrispondente Prof. A. Petrone dell' Uni-

versità di Catania fa la sua camunicazione dal titolo: " *Il valore della reazione ferrica nella cellula sanguigna* „. Numerosi preparati microscopici sono esposti all'osservazione dei Socii.

Terminata la comunicazione e dopo un chiarimento dato dal Prof. Petrone al Socio Ordinario Prof. Malerba, il Socio Ordinario Prof. DE RENZI propone che l' Accademia esprima il proprio compiacimento al Prof. Petrone e dia ampie lodi al suo lavoro, che è della più alta importanza scientifica. Per conto proprio, principalmente come Clinico, rileva le osservazioni del Petrone intorno alla clorosi e fa osservare che esse potrebbero riuscire di un grande valore pratico: propone perciò che sia nominata una Commissione col mandato di studiare questa parte delle osservazioni del Petrone.

Il Socio Ordinario Prof. ARMANNI si associa al Prof. de Renzi, ed aggiunge che la Commissione dovrebbe occuparsi anche della parte puramente scientifica. Certo la importanza dei fatti ricercati ed esposti dal Prof. Petrone richiederebbe un' ampia e profonda discussione, che l'ora tarda, l'osservazione semplice e quasi fuggevole dei preparati, l' impossibilità di ripetere e controllare le ricerche, rendono impossibile. Questo della Commissione potrebbe essere un modo di fare una tale discussione; perchè essa potrebbe ripetere gli esperimenti, fare qualche osservazione ai risultati ottenuti dal Prof. Petrone, a questo aggiungersi le osservazioni, che altri potrebbe fare a proposito del rapporto della Commissione, ed a tutto potrebbe rispondere anche da lontano il Prof. Petrone.

Avendo, dopo ciò, il Presidente annunziato che la Commissione richiesta potrebbe esser composta dai Socii Ordinarii Prof.ri Cardarelli, de Renzi e Schrön, QUESTI chiede di parlare e, declinando la nomina onorevole nella Commissione proposta dal Prof. de Renzi e scelta dal Presidente, osserva che tale Commissione gli sembra poco opportuna. Su argomenti, come quello trattato dal Collega Petrone, che sono d' interesse generale, lavorerà molta gentè e si pronunzierà la scienza intera. Egli da parte sua si ritira dalla Commissione proposta e della quale fu gentilmente chiamato a far parte, perchè è abituato a giudicare solo cose che conosce perfettamente, mentre nel caso attuale dovrebbe prima imparare ciò che dovrebbe cadere sotto il suo giudizio. Nè crede che sia il caso di fare già delle applicazioni pratiche, come vorrebbe il Prof. de Renzi, prima che l'essenza dei trovati del Prof. Petrone fosse messa in chiaro. Egli poi osserva al Prof. Petrone, che le sostanze differenziate dall'acido

solforico nel centro dei corpuscoli rossi umani gli sembrano cristalli ematici, la cui natura dovrebbe ancora determinarsi coi più forti ingrandimenti, dei quali dispone la nostra Scienza, massime mediante la microfotografia, per la quale Egli si offre al Collega Petrone.

Il Prof. ARMANNI fa osservare che forse Egli ha non chiaramente espresso il suo concetto e quindi che forse perciò è stato frainteso dal Prof. Schrön. La Commissione, della quale Egli ha parlato, accettando la proposta del Prof. de Renzi, non doveva avere per mandato di giudicare la scoperta del Socio Petrone nè di subordinare ad essa la pubblicazione della Memoria, perchè ciò non è chiesto dai Regolamenti, a norma dei quali il Socio Petrone ha diritto senz'altro alla pubblicazione della Memoria, e tanto meno dalla competenza ed autorità del ricercatore. Il suo pensiero invece era questo, che, vista e considerata la grande importanza delle ricerche esposte e le applicazioni che queste potrebbero avere in altri rami della scienza e della Clinica; e d'altra parte, tenuto conto che il desiderio espresso dall'Autore di aprire subito una discussione non potrebbe essere ora soddisfatto, perchè la importanza della comunicazione fatta è tale da non permettere nell'ora avanzata una discussione ampia e proficua e mancherebbe anche il tempo di domandare tutti gli opportuni chiarimenti, l' Accademia avrebbe potuto, invece della discussione, incaricare dei Socii più competenti, che si occupassero a studiare un tale argomento. Infatti, aggiunge il Prof. Armanni, Egli deve dichiarare di avere già presa qualche conoscenza dei preparati del Prof. Petrone e dei processi tecnici da lui impiegati per ottenerli; e che l'impressione avutane è stata quella di una ricerca, che potrebbe avere un' importanza sovrana ed essere ricca di conseguenze e perciò tale da eccitare l' interesse di ripeterle e di controllarle. É solo in questo senso che Egli sosteneva la nomina di una Commissione, sulla quale per altro, vista la diversità dei giudizi e la discrepanza sul significato di essa, non insiste ulteriormente.

Il Presidente Prof. de Martini, accettando le dichiarazioni fatte dai preopinanti, in vista della varietà delle interpretazioni, crede opportuno desistere dalla nomina di una Commissione ed ha come non avvenuto l'annunzio precedente. Solo che, rendendosi interprete dei sentimenti e dei giudizi dell' intera Accademia, dei quali i precedenti Oratori hanno dato autorevole manifestazione, fa plauso all' importanza ed alla grande serietà delle ricerche originali del So-

cio Petrone e confida fermamente che le medesime riceveranno la conferma e la sanzione della Scienza, sicchè ad esse sia accertato il carattere di una vera scoverta luminosa e proficua.

Chiusa la discussione, il Segretario chiede all' Accademia che ritenga come in anticipazione approvato il processo verbale di questa tornata, per potere affrettare la pubblicazione delle memorie e comunicazioni, che alla medesima si riferiscono e che altrimenti, per la sopravvenienza delle vacanze, non potrebbero essere pubblicate se non alla fine di quest'anno o al principio dell'anno nuovo.

L'Accademia consente.

Quindi la seduta è tolta.

Il Segretario
F. Frusci

Il Presidente
A. de Martini